Minia J. of Agric. Res. & Develop.
Vol. (٣٢) No. ٦ pp ١٠٦٧-١٠٧٦,
٢٠١٢

FACULTY OF AGRICULTURE

الفعالية المضادة للجراثيم للزيت العطري لنبات الزعتر الذي ينمو في سوريا

أحمد محمد - سماهر صقور

قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

Received ٢ Dec. ٢٠١٢ Accepted ٢٥ Dec. ٢٠١٢

الملخص

الهدف من هذا البحث هو تقييم الفعالية المضادة للجراثيم المسببة للمرض للزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر العطري الذي ينمو في سوريا، وذلك للبحث عن مواد طبيعية جديدة ذات فاعلية مضادة للجراثيم المسببة للمرض، تم تجهيز التركيزات من ١٠- ١% من الزيت العطرى، واختبر التأثير المثبط لها في نمو مجموعة من البكتيريا موجبة وسالبة الغرام (*Pseudomonas aerogenosa, Staphylococcus aureus E.coli,*) ونوعين من الفطريات (*Klebsilla pneumonia, Bacillus subtilis, Salmonella typhi,*) ونوعين من الخمائر (*Penicillium digitatum, Fusarium sp*)، وقد اوضحت نتائج الدراسة أن التأثير المثبط للزيت العطري يتناسب طردياً مع تركيز الزيت المستخدم، فقد أظهر قدرة على تثبيط *Klebsilla pneumonia* عند تركيز ٢%، في حين تأثر كل من *Pseudomonas aerogenosa, E.coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhi* بالتركيز ١%، وقد أظهر هذا الزيت قدرة على تثبيط كل من *Bacillus subtilis, Rhodotorolla glutins, Candida albicans, Fusarium sp, Penicillium digitatum* بالتركيز ١%.

١. المقدمة:

ينتمي نبات الزعتر *Thymus vulgaris* إلى الفصيلة الشفوية *lamiaceae*. وهو عبارة عن نبات عشبي معمر صغير الحجم كثير التفرع، السيقان قائمة خشنة لونها رمادي مائل للحمرة ومزغبة، لا يتجاوز ارتفاعها ٣٥ سم، الأوراق عطرية صغيرة ضيقة كاملة الحواف زغبية ومعنقة، قواعدها وقمتها حادة ولونها أخضر رمادي، لون الأزهار أرجواني فاتح أو أزرق تجتمع في نورات عنقودية، يوجد الزيت العطري في الغدد الزيتية على السطح السفلي للأوراق ويمتاز برائحته الكافورية، يتميز زيت الزعتر بخواصه القاتلة للبكتريا المرضية والفطريات ، ويعمل الزيت على طرد الديدان الرفيعة من الأمعاء، ويستعمل مغلي النبات أو زيته الطيار في علاج اللثة الملتهبة وتسوس الأسنان، يعد الزعتر من العقاقير الفاتحة للشهية والطاردة للريح المعدية ويفيد في علاج التهابات القناة الهضمية المزمنة، كما تعد مستحضرات الزعتر وزيته من المقشعات والملينات المستعملة بكثرة لعلاج حالات السعال الديكي والتهاب الشعب التنفسية الحادة والربو (الحكيم، ٢٠٠٨).

٢. المواد والطرائق:

٢.١. *مكان البحث* : نُفذ هذا البحث في مخابر كلية الزراعة – قسم علوم الأغذية، الهيئة العامة للبحوث الزراعية والهيئة العامة للتقنية الحيوية في الفترة الواقعة ٢٠١١ – ٢٠١٠.

٢.٢. *جمع العينات* :

جُمعت ٢٠ عينة عشوائية من المنطقة الساحلية (محافظة اللاذقية) من أوراق نبات *Thymus vulgaris* خلال شهر آذار (مارس).

٢.٣. غربلة وتنظيف وتجفيف النباتات المدروسة :

تمت عملية تنقية وتنظيف العينات النباتية المجموعة بغية التخلص من الشوائب العالقة من النباتات مجاورة أو الغبار. والمقصود بعملية التجفيف إزالة الماء من النبات، وتكمن أهمية التجفيف في المحافظة على نسبة المادة الفعالة فيه وحمايته من الفساد وإعداده للتخزين، حيث اتبعت طريقة التجفيف الطبيعي، وفيها نشرت العينات النباتية التي تمَ جمعها على صفائح من الورق على طاولات خشبية مرفوعة عن الأرض في مكان مظلل مع وجود تيار من الهواء، كما روعي عدم وضع النباتات في طبقات كثيفة فوق بعضها البعض، ثم

قلبت بشكل مستمر لضمان تعرض كل النباتات لعملية التجفيف وحرصاً على عدم تعرض الطبقات السفلية للتعفن في حال عدم تعرضها للهواء، وبلغت مدة التجفيف أسبوعا تقريباً حيث فقدت هذه النباتات معظم رطوبتها، ثم وضعت العينات في أواني زجاجية معتمة ليتم استخلاص الزيت العطري منها لاحقاً.

٢.٤. استخلاص الزيوت العطرية بالتقطير للنباتات العطرية:

استخلصت الزيوت العطرية الطيارة حسب منظومة الأدوية الأوروبي (AOAC, ٢٠٠٠) وقد تم العمل وفقاً للخطوات التالية:

أ) طُحنت العينة النباتية المجففة بصورة خشنة يدوياً وذلك لتأمين أكبر سطح للتماس بين المادة النباتية والماء المقطر وذلك بهدف الحصول على أكبر كمية ممكنة من الزيت الطيار من المادة النباتية تحت الدراسة .

ب) ووُزنت العينة المراد تقطيرها بواسطة ميزان حساس (حساسية ٠.٠١ حم) حيث تمَ وزن ٥٠ جم من العينة.

ت) غسل الجهاز الذي ستوضع بة العينة بالكحول الإيثيلي بهدف إزالة الشوائب والمعلقات السابقة بشكل جيد.

ث) تم وضع العينة النباتية المطحونة في دورق زجاجي (الحوجلة) ثمَ تمت إضافة كمية من الماء المقطر تعادل نصف حجم الدورق المستخدم (٥٠٠ مل ماء مقطر للدورق ذو سعة ١ ليتر).

ج) رفعت درجة حرارة السخان الكهربائي بشكل تدريجي تجنباً لحدوث تبخر سريع للزيت الطيار الموجود في العينة حتى الوصول إلى درجة حرارة ٨٥م°.

ح) استمرت عملية التقطير لمدة ثلاث ساعات تقريباً وذلك لضمان الحصول على كامل كمية الزيت الطيار الموجود في العينة. وحددت كمية الزيت المستخلصة من خلال أنبوب القياس، ثم حفظ الزيت العطري المستخلص على درجة حرارة ٤°م.

٢.٥. الزرع الجرثومي وتحديد الفعالية الحيوية للزيوت العطرية المدروسة:

١.٥.٢ الأحياء الدقيقة المستخدمة ومصادرها:

أ) البكتيريا: اختيرت خمس أنواع بكتيرية ممرضة ومسببة لفساد الأغذية، حيث اختير نوع واحد موجب الغرام وخمسة أنواع سالبة الغرام وهذه الأنواع موضحة في الجدول (١.٢):

الجدول (١.٢): الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة

اسم العزلة البكتيرية	اسم الوسط المستخدم	المصدر
Staphylococcus aureus	Braid Parker Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Klebsilla pneumoniale	الآجار المغذي(NA)	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Salmonella typhi	XLD Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Escherichia coli	EMB Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Bacillus subtilis	الآجار المغذي(NA)	الهيئة العامة للتقنية الحيوية

ب) الفطريات والخمائر: اختير نوعان من الفطريات ونوعان من الخمائر المسببة لفساد الأغذية، والجدول (٢.٢) يوضح أنواع الفطريات والخمائر المستخدمة في الدراسة.

الجدول (٢.٢): أنواع الفطريات والخمائر المستخدمة في الدراسة

النوع	المصدر	اسم الوسط المستخدم
Fusarium sp.	الهيئة العامة للبحوث الزراعية / قسم الوقاية	آجار ديكستروز البطاطا (PDA)
Penicillium digitatum	الهيئة العامة للتقنية الحيوية	
Candida albicans	الهيئة العامة للطاقة الذرية/ دمشق	
Rhodutorula glutins	الهيئة العامة للطاقة الذرية/ دمشق	

ت) الزرع الميكروبي: طريقة أقراص التحسس:(NCCLS, ٢٠٠٠; Benson, ١٩٩٤) استخدمت طريقة Agar disc diffusion حسب الخطوات التالية:

١- تحضير تركيزات متدرجة من الزيت العطري ١%، ٢%، ٣%، ٤%، ٥%، ٦%، ٧%، ٨%، ٩%، ١٠%، وذلك بمزجها بعامل استحلاب هو (التوين ٢٠)، وبمعدل خمس مكررات لكل تركيز.

٢- غمست الأقراص السيللوزية فى التركيزات التى تم اعدادها ووضعها على سطح الأوساط التي تم زرع الأحياء الدقيقة المدروسة (المنشطة قبل ٢٤ ساعة)

٣- التحضين لمدة ٢٤ ساعة على درجة حرارة ٣٧°م للبكتيريا، ولمدة ٧٢-٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠°م للفطريات والخمائر.

٤- تم قياس قطر دائرة التثبيط (مم).

٣. النتائج والمناقشة:

يبين الجدول (١.٣) تأثير التركيزات المختلفة في تثبيط البكتريا تحت الدراسة والمحددة بمتوسط بقطر الدائرة بالمليمتر ومنه نجد بأن *Klebsilla pneumoniae* قد تأثرت بالتركيز ٢% حيث بلغ القطر ٦مم، كما أظهرت علاقة إيجابية بين التركيز وقطر التثبيط حتى وصل إلى ١٢ مم عند التركيز ٩%، في حين تأثرت *Staphylococcus aureus* بالتركيز ١% بقطر قدره٦ مم وكذلك لوحظ وجود علاقة إيجابية بين التركيز وقطر التثبيط حيث أن قطر التثبيط عند التركيز ٩% بلغ ٢٣ مم ، وقد كانت هذه البكتيريا أكثر حساسية من الأنواع الأخرى وهذا يتوافق مع (Harpaz *et al*,٢٠٠٣) حيث أن البكتيريا موجبة الغرام أكثر حساسية تجاه تأثير الزيوت العطرية، أما بالنسبة لبكتيريا *Escherichia coli* فقد تأثرت أيضاً بالتركيز ١% بقطر تثبيط قدره٧ مم وكذلك أظهرت النتائج وجود علاقة إيجابية بين التركيز وقطر التثبيط الذي بلغ ١١.٥ مم عند التركيز ١٠%. كما تأثرت البكتيريا *Pseudomonas aeroginosa* بالتركيز ١% بقطر ٦ مم، وقد سبب التركيز ١% تثبيطا لبكتيريا *Salmonella typhi* بقطر ٥.١ مم، وقد لاحظ أن البكتيريا موجبة الجرام كانت أكثر حساسية من سالبة الجرام وهذا يتوافق مع الدراسات المرجعية (Faleiro *et al*,(٢٠٠٣ و Valero and Salmeron,(٢٠٠٣)

الجدول (١.٣): تأثير التركيزات المختلفة من أوراق نبات الزعتر علي تثبيط البكتريا المدروسة والمحددة بمتوسط قطر الدائرة بالمم X±SD*

التركيز %	الأحياء الدقيقة المدروسة حسب قطر التثبيط X±SD					
	Pseudomonas aeroginosa	*Klebsilla pneumonia*	*Salmonella typhi*	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Bacillus subtilis*
١٠	١٢±٠	١٢±٠.١٧	١٣±٠	٢٣±٠.٤٥	١١.٥±٠	١٢±٠
٩	١٠±٠	١٢±٠.١٧	١١.٨±٠.٣٣	٢٣±٠.٤٥	١١±٠.١٧	١١.٧±٠.٣
٨	٨.٣±٠.٢٢	١١.٨±٠.٠٨	١١.٨±٠.٣٣	٢٢.٣±٠.٢٢	١٠. ٩±٠.٢	١٠.٢±٠.١٧
٧	٨.١±٠.٢٢	١١.٤±٠.٠٨	٨.٩±٠.١٧	٢٠.٣±٠.٢٢	١٠.١±٠.١٧	٩.٧±٠.٠٨
٦	٧.٣±٠.٢٢	٩.٨±٠.٠٨	٨.١±٠.١٧	١١.٨±٠.٢٢	٩.٤±٠.١٧	٨.١±٠.١٧
٥	٦. ٩±٠.٢	٧.٣±٠	٨±٠.١٧	١٠.٥±٠	٩.٣±٠.١٧	٧.٣±٠
٤	٦. ٩±٠.٢	٧.١±٠.٠٨	٧. ٤±٠.١٧	٩.٣±٠.٢٢	٩.٢±٠.٠٨	٧.٣±٠
٣	٦.٥ ±٠.٢	٦. ٢±٠.٠٨	٧.١±٠.١٧	٨. ٩±٠.٢٢	٩.١±٠.١١	٦.٥±٠.١٧
٢	٦.٣ ±٠.٢	٦±٠.٠٨	٦.١±٠.١٧	٧±٠.٢٢	٧.٥±٠.١١	٦.١±٠.٢٢
١	٦ ±٠.٢٢	٠	٥.١±٠.١٧	٦±٠.٢٢	٧±٠.١١	٦±٠.٢٢

* القيمة تمثل متوسط لخمس مكررات.

تأثير الزيت العطري المستخلص من أوراق نبات الزعتر على الفطريات والخمائر:

تمت دراسة تأثير الزيت العطري المستخلص من أوراق نبات الزعتر على الفطريات والخمائر وقد ظهرت النتائج المبينة في الجدول (٢.٣).

الجدول (٢.٣): تأثير التركيزات المختلفة من أوراق نبات الزعتر على تثبيط الخمائر والفطريات تحت الدراسة والمحددة بمتوسط قطر الدائرة بالممX±SD*

التركيز المستخدم	أقطار بقع التثبيط مقاسة بالملم

Candida albicans	*Rhodutorula glutins*	*Penicillium digitatum*	*Fusarium S.P*	
٢٠±٠	١٣±٠	١٣.١±٠.١	١٧±٠	١٠٪
١٨±٠	١٣±٠	١٣±٠.٢٢	١٦.٧٨±٠.٤٤١	٩٪
١٦±٠	١٣±٠	١٢.٥±٠	١٦.٧٨±٠.٤٤١	٨٪
١٢.٥±٠	١٢±٠	١٢.٥±٠	١٥±٠	٧٪
١٠.٦±٠.٥	١١±٠	٩.٨±٠.٢٥	١٢.٦±٠.٥	٦٪
٩.٦±٠.٥	٩.٦±.٥	٩.١±٠	٩.٦±٠.٥	٥٪
٨.٦±٠.٥	٧.٦±٠.٥	٨.٦±٠.٥	٩.٤±٠	٤٪
٧. ٧±٠.٥	٦.٥±٠.٥	٨ ±٠.٥	٩.١±٠.٥	٣٪
٦.٦±٠.٥	٦±٠.٥	٧.١±٠	٨.٢±٠.٥	٢٪
٦±٠.٥	٥.١±٠.٥	٦.١±٠	٦±٠	١٪

* القيمة تمثل متوسط لخمس مكررات .

كما هو ملاحظ من الجدول السابق فقد تأثرت الأنواع المدروسة من الفطريات والخمائر بالتركيزات المستخدمة ويلاحظ زيادة قطر التثبيط الميكروبي بزيادة التركيز المستخدم بالنسبة لمختلف الأنواع، حيث كان قطر بقع التثبيط عند تطبيق التركيز ١٠% على الفطر *Fusarium sp.* حوالي١٧ مم في حين انخفض قطر التثبيط عند تطبيق هذا التركيز على الفطر *Penicillium digitatum* إلى ١٣.١ مم وهذا يتوافق مع نتائج Chebli وزملائه عام ٢٠٠٣، أما عند تطبيق التركيز ٨% على خميرة *Rhodutorula glutins* فقد كان قطر التثبيط ١٣ مم ولم تسبب زيادة التركيز زيادة في قطر التثبيط، وارتفع قطر التثبيط عند تطبيق التركيز ١٠% على الخميرة *Candida albicans* إلى ٢٠

مم وهذا ما يتوافق مع نتائج Daferera عام ٢٠٠٣، وبالنظر إلى التركيزات المنخفضة نلاحظ أن التركيز ١% قد سبب تثبيطا لكافة الأنواع المدروسة.

٤. الاستنتاجات:

أظهرت البكتيريا موجبة الغرام حساسية أعلى لتأثير زيت الزعتر العطري من البكتيريا سالبة الغرام ، في حين أظهرت البكتيريا تدرجاً في حساسيتها لتأثير زيت الزعتر العطري. وكذلك أظهرت الفطريات والخمائر مقاومة أقل من البكتيريا لتأثير زيت الزعتر العطري. وفى هذا الصدد قد أظهرت خميرة *Candida albicans* أقل مقاومة.

المراجع

المراجع العربية:

الحكيم، وسيم (٢٠٠٨) النباتات الطبية والعطرية. منشورات جامعة دمشق.

المراجع الأجنبية:

A..OA.C,(٢٠٠٠). Official Methods of Analysis of AOAC International, ١٧th edition. USA.

Benson, H. J. (١٩٩٤). Microbiological Application, sixth Edition WCB, Melborn, Australia.

Chebli, B; Mohamed, A; Idrissi, H; and Hmamouchi, M. (٢٠٠٣). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers:fr.Journal of Ethnopharmacology.٨٩:١٦٥-١٦٩.

Daferera, D; Ziogas, N; and Polissiou, G. (٢٠٠٣). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea, Fusarium* sp.and *clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. Crop Protection. ٢٢:٣٩-٤٤.

Faleiro, M; Miguel, M; Ladeiro, F; Venancio, F; Tavares, R; Brito, J; Figueired, O, A; and Barroso, J; Pedro, L.(٢٠٠٣). Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of Thymus. Let Appl Microbial.,٣٦ (١); ٣٥-٤٠.

Harpaz, S; Glatman, L; Drabkin, V; and Gelman, A. (٢٠٠٣). Effect of herbal essential oils used to extend the shelf life of fresh water reared Asian sea bass fish (lates calcarifer).Journal of Food Protection ٦٦ (٣),٤١٠-٤١٧.

NCCLS (National Committee for Colinical Laboratory standards). (٢٠٠٠). Methods of dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.٥th edn. Wayne: Approved Standard.

Valero, M and Salmeron, M.(٢٠٠٣). Antimicrobial activity of ١١ essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. International Journal of Food Microbiology.٨٥, Issues (١-٢,١٥):٧٣-٨١.

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE THUME PLANT GROWN IN SYRIA

E. Ahmed Mohammad and E. Samaher Saqour
Aide Instruction Assistant, Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the antispors activity of the essential oil of thyme, concentrations of ١٠-١ of essential oil were prepared and their antimicrobial effects were tested on the growth of a group of bacteria positive and negative gram, namely (*E.coli-Staphylococcus aureus -Pseudomonas aerogenosa -Bacillus subtilis- Salmonella typhi- Klebsilla pneumonia*) and two kinds of fungus (*Fusarium sp- Penicillium digitatum*) and two kinds of yeasts (*Candida albicans- Rhodotorolla glutins*). The results showed that the antimicrobial effect of thyme essential oil has a direct and positive relationship with the concentration of essential oil used. Results for microorganisms inhibition showed that *Klebsilla pneumonia* was inhibited by ٢٪ concentration of the extracted oil from thym In addition; *Salmonella typhyi and Pseudomonas aeroginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis* were inhibited by ١٪ concentration of the extracted oil from thyme. Also, *Candida albicanas, Rhodotorolla glutins, Fusarium sp, Penicillium digitatum* were inhibited by ١٪ concentration of the tested oil .